

氏 名 (本籍)	橋 本 温 (東京都)
学位の種類	博士 (学術)
学位記番号	甲 第 2 号
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当
学位論文題名	水道水源および水道水のクリプトスポリジウムおよびジアルジア汚染に関する水質衛生学的研究
論文審査委員	(主査) 平 田 強 (副査) 丸 山 務 内 田 明 彦

論 文 内 容 の 要 旨

水道を介した集団感染が報告されている病原性原虫クリプトスポリジウムおよびジアルジアによる水源および水道水の汚染の実態を把握するために、神奈川県的主要な水源の一つである相模川水系相模川、中津川および小鮎川の11地点について1997年6月～1998年6月までの13ヶ月間、クリプトスポリジウムおよびジアルジア汚染状況の調査を行った。これらの原虫の浄水処理システムによる除去性および水道水の汚染状況を把握するために、相模川を水源とする浄水場の原水および凝集沈殿-急速ろ過された浄水の原虫汚染状況を1998年7月～1999年9月まで調査した。また、膜ろ過法の原虫除去能を評価するために、膜処理実験装置を用いた添加実験で限外および精密ろ過膜により *C.parvum* オーシスト除去能を評価した。

相模川水系の原虫汚染状況の調査では、11地点、全106試料のうちクリプトスポリジウムオーシストは76 (72%) 試料から幾何平均値24個・100 l^{-1} 、ジアルジアシストは77試料 (73%) から幾何平均値13個・100 l^{-1} で検出された。相模川水系は水道水源も含め、両原虫による常在的な汚染を受けていることが明らかになった。

採水地点の1つである清川村片原橋 (小鮎川) の約50m上流に放流される養豚排水処理水からは10³～10⁴個・ l^{-1} と高濃度に両原虫が検出された。また、養豚排水処理水およびその流入地点の下流の小鮎川厚木市元町地点ならびに水道水源である寒川町宮山地点で検出されたクリプトスポリジウムオーシストのDNAをPCR-RFLP法で解析したところ、陽性結果の得られたすべてのオーシストが人以外の動物を中心に分離されるウシタイプに分類された。これらのことから、相模川水系の原虫の汚染源として豚をはじめとする家畜の関与が強く示唆された。

原虫試験は煩雑であり、簡便に試験できる代替指標の導入が求められている。本研究では原虫汚染を代替あるいは補完する指標を検討するために相模川水系の原虫汚染調査と平行して推定ウェルシュ菌芽胞、大腸菌、大腸菌群、好気性芽胞および濁度の5つの水質指標を測定し、これらの濃度と原虫

濃度との関係を単回帰および重回帰分析で評価した。回帰分析の結果、単独の指標としては推定ウェルシュ菌芽胞が最も優れた指標であり、次いで大腸菌が有効であった。複数の指標を用いる場合には推定ウェルシュ菌芽胞に加えて大腸菌、大腸菌群、好気性芽胞のいずれかの組合せが選択された。これらの指標を用いることで水系の原虫汚染の多寡をスクリーニング的に把握することが可能であり、効率よく水系の原虫汚染状況を推定することが可能であると考えられた。原虫濃度と指標濃度の関係より、寄与率の高かった推定ウェルシュ菌芽胞または大腸菌と原虫濃度の単回帰式から原虫の年間許容感染リスク 10^{-4} に相当する原水の指標濃度を求めると、凝集沈殿砂ろ過による浄水処理（原虫除去指数 $3\log_{10}$ ）を想定すると推定ウェルシュ菌芽胞はクリプトスポリジウムで $8\text{cfu}\cdot 100\text{ml}^{-1}$ 、ジアルジアで $3\text{cfu}\cdot 100\text{ml}^{-1}$ 、同様に大腸菌ではそれぞれ 50 および $20\text{MPN}\cdot 100\text{ml}^{-1}$ 、原虫濃度として PI オーシストおよびシストを用いた場合には原水の指標濃度はさらに小さくなり、推定ウェルシュ菌芽胞ではそれぞれ 5 および $2\text{cfu}\cdot 100\text{ml}^{-1}$ 、大腸菌では 30 および $7\text{MPN}\cdot 100\text{ml}^{-1}$ となった。PI シスト数に対する指標濃度を基準として用いた場合、推定ウェルシュ菌芽胞で $2\text{cfu}\cdot 100\text{ml}^{-1}$ 、大腸菌で $7\text{MPN}\cdot 100\text{ml}^{-1}$ を越えるような原水を使用した場合には原虫の年間感染リスク 10^{-4} を越える可能性が高くなると考えられた。

浄水処理システムによる原虫の除去性に関する調査では、限外および精密ろ過膜を用いた膜処理ではどちらも $7\log_{10}$ 以上の除去指数が得られ、高度の原虫汚染にも対応しうるシステムであると評価された。一方、相模川水系を水源とする浄水場における調査では、凝集沈殿砂ろ過を行った浄水からも極低濃度で両原虫が検出され（クリプトスポリジウムオーシスト幾何平均値 $1.2\text{個}\cdot 1,000\text{l}^{-1}$ 、ジアルジアシスト $0.8\text{個}\cdot 1,000\text{l}^{-1}$ ）、原水と浄水の原虫濃度より求めた浄水処理による両原虫の除去指数は $2.5\sim 3\log_{10}$ であった。

検出された原虫のすべてに感染性があり、1日 2l の水道水を飲用すると仮定し、浄水の原虫濃度の測定値および相模川の寒川町宮山付近の河川水を原水とし、凝集沈殿砂ろ過による浄水処理での除去から推定した浄水の原虫濃度から、水道水による両原虫の年間感染リスクを求めると $10^{-3}\sim 10^{-2}$ であった。膜処理を利用した場合を除いて現行の浄水処理システムでは U.S.EPA の提唱する水道水による原虫の年間許容感染リスクである 10^{-4} を満たすことは困難であった。

論文審査の結果の要旨

水道を介した原虫感染症の集団発生が、先進諸国、とりわけ米国、英国で多発しており、我が国でも 1994 年と 1996 年にそれぞれ 1 件ずつ発生している。この集団感染の原因となった病原性原虫 *Cryptosporidium parvum* のオーシストと *Giardia lamblia* のシストはともに消毒剤抵抗性が著しく高く、これまで病原細菌対策として水道界で発展・実施されてきた塩素消毒では十分な不活化ができないことが明らかにされている。このため、水の微生物衛生上の今日的最重要課題と位置付けられ、本原虫類に対する適正な制御技術の確立が求められている。しかしながら、水からの検出に極めて多大の労力と高度の熟練を要するうえ、生育活性（Viability）や感染性（Infectivity）を評価する簡便な方法は開発されていないことから、我が国では医学、衛生学、水質環境工学のいずれの分野においても、この

原虫問題に対する取り組みはほとんどなされていない状況にあった。

本研究は、このような背景下にあつて、水環境の汚染実態の解明、原虫汚染の代替指標の開発、浄水処理における除去性の評価に関する実験・調査研究を行うとともに、それらの研究成果に基づいて、水道の原虫感染リスクの現状を水質衛生の観点から評価したものである。

まず、水環境調査では、神奈川県的主要な水道水源である相模川を対象とし、相模川本川6カ所、支川の中津川に3カ所、同じく支川の小鮎川に2カ所の計11カ所に調査地点を設定、1～2ヶ月に1回の頻度で、試験水量100lの調査を行い、全106試料のうち76（72%）試料から *Cryptosporidium* オーシストを検出（幾何平均値24個・100l⁻¹）、77試料（73%）から *Giardia* シストを検出（幾何平均値13個・100l⁻¹）し、環境水が広範かつ常在的に両原虫に汚染されていることを我が国で初めて明らかにした。また、同時に測定した指標細菌4項目（*E.coli*、大腸菌群、推定ウェルシュ菌芽胞、好気性芽胞）および濁度の計5項目の調査データを用いて、単回帰分析、及び重回帰分析により原虫汚染に対する代替指標の指標性の検討を試みている。そして、単回帰分析から、*Cryptosporidium* オーシストおよび *Giardia* シストのいずれに対しても推定ウェルシュ菌芽胞が最も高い相関を示すこと、目的変数を *Cryptosporidium* オーシストおよび *Giardia* シストとした重回帰分析から、自由度二重調整寄与率を最大にする説明変数の数は2であり、その2つの説明変数のうち主要な説明変数となるのが推定ウェルシュ菌芽胞であるとの結果を得ている。さらに、文献情報を踏まえて、*Cryptosporidium* オーシスト及び *Giardia* シストと、推定ウェルシュ菌芽胞の水環境における挙動特性の比較検討を行い、推定ウェルシュ菌芽胞を原虫汚染指標として利用することの妥当性を論証している。これらの知見は、推定ウェルシュ菌芽胞が原虫汚染評価のための優れた代替指標となりうることを強く示唆するものであり、水の原虫類汚染に関する安全性の評価指標の発展に大きく貢献する学術的知見と判断される。

相模川水系の調査ではさらに、最も主要な汚染源が支川小鮎川流域に立地する神奈川県最大規模の養豚場排水であることを明らかにしたほか、養豚排水処理水、処理水流入点8km下流の小鮎川厚木市元町地点及びさらに8km下流の水道原水取水地点（寒川町宮山）で検出された *Cryptosporidium* オーシストのDNAをPCR-RFLP法で解析し、陽性結果の得られたすべてのオーシストが人以外の動物を中心に分離されるウシタイプに分類されることを明らかにしている。このことは、相模川水系の *Cryptosporidium* 汚染は家畜等の動物が汚染源となっている可能性を強く示唆しており、水道水源保全対策を立案するときの有効な情報と考えることができる。

浄水処理による原虫の除去性に関しては、比較的高濃度で原虫が検出された相模川水系から原水を取水して凝集沈殿・砂ろ過法で処理している実稼働の浄水場において、原水50l、ろ過水1,000～2,000l 規模の精力的な調査を行い、それに基づいた除去性評価と、最新の浄水処理技術である膜ろ過法の *Cryptosporidium parvum* オーシスト排除能実験による評価を行っている。浄水場における実態調査では、まず、適正に浄水処理していてもその浄水中に原虫が出現すること（*Cryptosporidium* オーシスト：幾何平均1.2個/1,000l、*Giardia* シスト0.8個/1,000l）を明らかにし、さらに、原水中の *Cryptosporidium* オーシストと *Giardis* シストの出現濃度が対数正規分布に従うろ過水の *Cryptosporidium*

オーシストと *Giardia* シストの出現濃度が対数正規分布に従う可能性が高いことを例証している。また、それらの調査結果に基づき急速砂ろ過法の原虫除去能力を評価し、適正に運転管理されていても $2 \sim 3 \log_{10}$ であって、 $3 \log_{10}$ を大きく超える除去は期待できないことを我が国で初めて実証している。精密ろ過膜及び限外ろ過膜を中空糸膜ろ過法の *Cryptosporidium* オーシスト除去実験では、クロスフロー方式の場合、精密ろ過膜は約 $7 \log_{10}$ の除去能力を有すること、限外ろ過膜は $7 \log_{10}$ を超える除去能力を有することを実証、精密ろ過膜についてはさらにデッドエンドろ過方式についても $7 \log_{10}$ の除去能力を有するとの知見を得、膜ろ過法が原虫汚染された原水の感染リスク低減技術として極めて優れた能力を有することを我が国で初めて実証している。

本論文ではさらに、水道原水取水地点及び浄水から検出された *Cryptosporidium* オーシスト並びに *Giardia* シストのすべてがヒト感染性を有すること、水道水の飲料量は WHO の採用している 1 日 2l であることの 2 つの前提条件を設定した上で、*Cryptosporidium* オーシストに関しては Haas *et al.* (1996)、*Giardia* シストに関しては Rose *et al.* (1991) の提示した感染確率モデル式を用いて、水道水の感染リスクの試算を行っている。そして、相模川を原水とする水道水の *Cryptosporidium* オーシスト並びに *Giardia* シストによる（最大）感染リスクレベルは、U.S.EPA グループの提案している許容感染リスク 10^{-4} /年の 10 ～ 100 倍に相当する $10^{-3} \sim 10^{-2}$ /年程度になるおそれがあるとの試算結果を得、原虫汚染のレベルによっては、浄水処理方法の見直しを検討する必要があることを示唆している。

このように、本論文は、水の微生物衛生上の最大課題となっている原虫汚染、とりわけ *Cryptosporidium* 汚染問題に関する重要な学術的知見を得たものであり、その成果は水質衛生学、水質環境光学分野の今後の発展に大きく貢献するものと評価できる。また、本研究の成果の一部は、水道における原虫汚染問題対策のための国の主要な施策の一つである「水道におけるクリプトスポリジウム等暫定対策指針」の制定・改訂に際して、水質衛生学並びに水質環境工学分野の重要な科学的知見として利用されるなど、公衆衛生、保健衛生分野への貢献にも優れた学術上の成果を得ている。

以上、要するに本論文は、水環境汚染、浄水処理における除去法および水道水の汚染状況と健康リスク等の水質衛生的観点から、水の原虫汚染問題について精力的な研究を行い、環境保健学分野における優れた学術的知見から得たものであり、博士（学術）の学位を授与するにふさわしいと判断した。